

Facultad de Estomatología Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana

Las Aquaporinas: Estructura e importancia en la Biomedicina.

Carmen Soto Febles.

Master en Bioquímica de las Proteínas. Asistente en Bioquímica. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Estomatología. Avenida Salvador Allende esquina Ayestarán. Teléfono: 8796365.

Colaboradora del Centro de Estudios de Proteínas. Facultad de Biología. Teléfono: 8324830

E-mail: carmensoto76@yahoo.com

Carlos Álvarez Valcárcel.

Doctor en Ciencias. Profesor Auxiliar. Centro de Estudios de Proteínas. Departamento de Bioquímica. Facultad de Biología. Teléfono: 8324830.

Carmen Febles Fernández.

Profesora Asistente. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Estomatología. Avenida Salvador Allende esquina Ayestarán. Teléfono: 8796365.

José Soto Morlá.

Profesor Auxiliar. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Estomatología. Avenida Salvador Allende esquina Ayestarán. Teléfono: 8796365.

Resumen

Durante mucho tiempo la capacidad que tienen las membranas para transportar el agua se consideró un misterio. Múltiples evidencias apuntaban a favor de la existencia de canales acuosos. Sin embargo, no fue hasta hace alrededor de diez años que se demostró su presencia en las membranas plasmáticas. La identificación del primer canal, así como otros relacionados, permitió agruparlos en una familia de proteínas denominadas Aquaporinas que se encuentran en las membranas celulares de todas las células. Diversas enfermedades se encuentran relacionadas con el déficit y la sobreexpresión de estas estructuras entre las que se encuentra la Diabetes Nefrogénica Insípida. Nos proponemos en este trabajo, dar a conocer las características estructurales del primer canal de agua identificado, así como la importancia de estos canales en la Biomedicina.

Palabras claves: aquaporinas, transporte de agua, canal acuoso, CHIP-28

Introducción:

Debido a que el agua es el principal componente de todos los seres vivos, la capacidad que tienen las células para absorberla y liberarla puede ser considerada como una propiedad fundamental de las células vivas. El agua puede atravesar las membranas lipídicas por difusión. Sin embargo, las membranas plasmáticas exhiben permeabilidades diferentes al agua y esto dio lugar en la década de los 50s a la suposición de la existencia de canales de agua (1). Las membranas eritrocitarias poseen una elevada permeabilidad al agua, y la energía de activación de su paso a través de las mismas es inferior a 5 kcal mol⁻¹, a diferencia de las membranas lipídicas puras, donde es superior a las 10 kcal mol⁻¹. A pesar de las múltiples evidencias, no fue hasta hace diez años que se determinó la estructura molecular de los poros de agua, mientras se purificaba un componente del antígeno del grupo Rh (2). A este canal se le denominó CHIP-28 (channel-like integral protein of 28 kDa) (3), ahora conocida como AQP-1 (Aquaporina -1). La presencia de estas proteínas en las diferentes membranas permitió establecer que estos canales constituyen una familia de proteínas que se localizan en todas las células y que participan en el transporte de agua, y de esta forma pudieran estar vinculadas con la regulación del volumen celular. A esta familia de proteínas integrales de membrana se les denominó aquaporinas (AQP) (4).

Nos proponemos en este trabajo, dar a conocer las características estructurales del primer canal acuoso identificado, así como la importancia de estos conductos en la Biomedicina.

Clasificación y distribución de las AQP

Hasta el momento se han identificado 10 AQP en el ser humano(5), las cuales se clasifican en dos grupos: Aquagliceroporinas y AQP ortodoxo(6). Las primeras, además de participar en el transporte de agua, permiten el paso de otros compuestos como urea, glicerol y gases como el CO₂. Entre ellas se encuentran: AQP-3, AQP-7, AQP-9, mientras que las segundas, participan solamente en el paso de agua a través de las membranas. En este grupo se encuentran: las AQP-0, AQP-1, AQP-2, AQP-4, AQP-5, AQP-6 y AQP-8 (6).

Las AQP se encuentran distribuidas en todas las membranas del organismo, donde desempeñan la importante función de permitir el paso de agua. La AQP-0 se halla en las membranas celulares de la fibra del cristalino(7), en tanto las AQP-2 parecen desempeñar un papel importante en el funcionamiento del riñón(8). En el cerebro se detectan principalmente las AQP- 4(9), entre tanto en las glándulas salivales, lagrimales y sudoríparas predominan las AQP- 5 (10). Las AQP-6 aunque se encuentran en el epitelio renal, su función no está completamente definida (6). En los testículos son características las AQP-7(11), en hígado y páncreas, las AQP- 8(12) y las AQP- 9 se hallan en los leucocitos(13). Resulta sobresaliente la función de las AQP-1 y 3 en las membranas eritrocitarias, en los túbulos proximales renales y en las vías respiratorias(6).

Características estructurales de la AQP-1.

Constituye la primera proteína transportadora de agua que se identificó. Es un homotetrámero de 190-200 kDa, que se organiza en cuatro canales acuosos independientes. Cada monómero está constituido 269 aminoácidos que se encuentran distribuidos en seis α - hélices que se expanden a través de la membrana y en cinco lazos que las interconectan. Los extremos amino terminal y carboxilo terminal están expuestos hacia el citoplasma. Mediante estudios de mutagénesis se comprobó en cada entidad monomérica la presencia del motivo NPA(Asparagina-Prolina-Alanina) que es esencial para el transporte de agua. Esta proteína resulta inhibida por los mercuriales como el HgCl₂. Esta inhibición ha sido atribuida a la formación de un enlace tipo mercáptido con un residuo de cisteína en la posición 189, supuestamente involucrado en la formación del poro (6). El compuesto orgánico no mercurial tetraetilamonio reduce de manera selectiva la permeabilidad al agua, al parecer por su interacción con un residuo de tirosina localizado cerca del poro(14). Se estimó que el flujo de agua es bidireccional y que por cada poro acuoso fluyen 3×10^9 moléculas seg⁻¹. La cantidad de moléculas de agua que atraviesan los canales, junto al número de moléculas proteínicas (2×10^5) por célula, hacen a estas entidades importantes para el transporte de agua en los eritrocitos humanos.

Todos los miembros de esta familia proteínica son considerados canales de agua, debido a que poseen motivos estructurales similares a los presentes en las AQP -1, los cuales son esenciales para su función.

Importancia biomédica de las aquaporinas.

Diversas enfermedades se encuentran relacionadas con una inadecuada expresión de estas entidades proteínicas.

Una de las más estudiadas ha sido la Diabetes Nefrogénica Insípida (DNI). La permeabilidad al agua de los conductos colectores renales está regulada por la acción de la vasopresina. Las AQP-2 se sintetizan en el interior celular y son exportadas hacia la membrana plasmática mediante un tráfico vesicular por un mecanismo de exocitosis, el cual está regulado por la hormona. La DNI es un trastorno en el cual los niveles de vasopresina se encuentran elevados, sin embargo, el riñón no responde a este estímulo. Como consecuencia, se excretan grandes volúmenes de orina diluida. Se han observado mutaciones en los genes que codifican para las AQP-2 específicamente en los dominios del poro acuoso(15). Por otra parte, el exceso de su expresión puede ocasionar retención renal de agua lo que se ha observado en pacientes con enfermedades del sistema cardiovascular(16). Debido a esta relación las AQP-2 han sido consideradas como esenciales en el metabolismo del agua.

Otra de las aquaporinas de importancia clínica es la AQP-5. La ausencia o disminución de su expresión está relacionada con la aparición del Síndrome de Sjögren, una enfermedad que se caracteriza por la destrucción autoinmune de las glándulas salivales y lagrimales y el tejido respiratorio y conduce a ojo seco y boca seca (17). Recientemente se demostró que esta entidad es esencial para la secreción del sudor, encontrándose hiperhidrosis en modelos animales carentes del gen que codifica a esta proteína, lo que permitió concluir que sin AQP-5,

no se suda(18).

La deficiencia de AQP-1 en los humanos al parecer no es letal. Individuos carentes de AQP-1 son incapaces de producir orina concentrada y cuando se exponen a un déficit de agua, sufren de deshidratación(6).

El déficit de la AQP-0 se relaciona con la aparición de cataratas congénita(6) , mientras que la falta de AQP-4 parece estar involucrada con la ocurrencia de edema cerebral(19).

A pesar de los pocos años que llevan de identificadas, el tema de las aquaporinas parece ser de gran importancia en el desarrollo de la Medicina. Alrededor de diez estructuras pertenecientes a esta familia han sido determinadas, pero todo apunta a un promedio de dos nuevas entidades al año, lo que llama a la reflexión de su abundancia en los organismos. Justamente con la secuenciación del genoma humano se ha visto que el ser humano contiene genes que codifican para muchas aquaporinas presentes en los mamíferos. De esta forma, en la evolución pudiera haber ocurrido un cambio en la ontogenia y en los niveles de expresión de las mismas. Lo cierto es que la mayoría de ellas constituyen canales de agua y el papel que desempeñan en diferentes enfermedades, como son las cataratas, el edema cerebral y otras explicadas en este trabajo, le confieren gran importancia en el estudio y esclarecimiento a nivel molecular de otras enfermedades que se ponen de manifiesto en los organismos vivos.

Referencias Bibliográficas:

- 1- Sidel V.W., Solomon A.K. (1957). Entrance of water into human red cells under an osmotic pressure gradient. *J Gen Physiol* , 41: 243-257.
- 2- Preston, G. M. and Agre, P. (1991). Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: member of an ancient channel family. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 88, 11110-11114.
- 3- Agre P., Preston G.M., Smith B.L. (1993). Aquaporin CHIP: The archetypal molecular water channel. *Am J. Physiol.* 265: F463-476.
- 4- Agre P. (1997). Molecular physiology of water transport: aquaporin nomenclature workshop. *Mammalian aquaporins. Biol. Cell.* 89:255-257.
- 5- Landon, K.; Yasui, M.; Agre, P. (2000) Aquaporins in health and disease. *Molecular Medicine Today*, 6: 60-65 .
- 6- Borgnia, M., Nielsen, S., Engel, A, and Agre, P.(1999). Cellular and Molecular Biology of the Aquaporin Water Channels. *Annu. Rev. Biochem.* 68: 425-458
- 7- Shiels, A., Bassnett, S. (1996). Mutations in the founder of the MIP gene family underlie cataract development in the mouse. *Nat. Genet.* 12:212-215.
- 8- Fushimi, K., Uchida, S., Hara, Y., Hirata, Y., Marumo, F., Sasaki, S. (1993). Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. *Nature* 361:549-552.
- 9- Hasegawa, H., Ma, T., Skach, W., Matthay, M.A., Verkman, A.S.(1994). Molecular cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water-transporting tissues. *J.Biol.Chem.* 269:5497-5500.
- 10- Nielsen, S., King, L.S., Christensen, B.M, Agre, P. (1997). Aquaporins in complex tissues. II. Subcellular distribution in respiratory and glandular tissues of rat. *Am. J. Physiol.* 273: C1549-1561.
- 11- Ishibashi, K., Kuwahara, M., Gu, Y., Kageyama, Y., Tohsaka, A. (1997). Cloning and functional expression of a new water channel abundantly expressed in the testis permeable to water, glycerol and urea. *J. Biol. Chem.* 272: 20782-20786.
- 12- Ishibashi, K., Kuwahara, M., Gu, Y., Kageyama, Y., Tohsaka, A., Marumo, F., Sasaki, S. (1997). Cloning and functional expression of a second new aquaporin abundantly expressed in testis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 237:714-718.
- 13- Ishibashi, K., Kuwahara, M., Gu, Y., Tanaka, Y., Marumo, F., Sasaki, S. (1998). Cloning and functional expression of a new aquaporin (AQP9) abundantly expressed in the peripheral leukocytes permeable to water and urea, but not to glycerol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244:268-274.
- 14- Brooks, H., Regan, J and Yool, A.(2000). Inhibition of Aquaporin-1 water permeability by TEA: Involvement of the loop E pore region. *Molecular Pharmacology* 57:1021-1026.
- 15- van Lieburg, A.F., Verdijk, M. A., Knoers, V. V. (1994). Patients with autosomal nephrogenic

diabetes insipidus homozygous for mutations in aquaporin-2 water-channel gene. *Am. J. Hum. Genet* 55:648-652.

16- Xu, D.L., Martín, P.Y., Ohara, M., St John, J., Pattison, T., Meng, X., et al (1997). Upregulation of aquaporin-2 water channel expression in chronic heart failure rat. *J. Clin Invest.* 99:1500-1505.

17- Fox, R.I. (1995). Sjogren's syndrome. *Curr. Opin. Rheumatol* 7:409-416.

18- Nejsum, L. N., Kwon, T. H., Jensen, U. B., Fumagalli, O., Frokiaer, J., Krane, C., et al. (2002) Functional requirement of aquaporin-5 in plasma membranes of sweat glands. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 8;99(1):511-516.

19 -Nielsen, S., Nagelhus, E.A., Amiry-Moghaddam, M., Bourque, C., Agre, P., Ottersen, O. P. (1997). Specialized membrane domains for water transport in glial cells: High resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *J.Neurosci.* 17:171-180